Aus dem hygienischen Institut zu Würzburg.

Ueber den

Einfluss des Wassergehaltes der Nährböden auf das Wachsthum der Bacterien.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medicinischen Doctorwürde

vorgelegt der

hohen medicinischen Facultät

der

Universität Würzburg

von

Leo Wolf,

aus Oberstein a. N.

München.

Druck von R. Oldenbourg.

1899.

Aus dem hygienischen Institut zu Würzburg.

Ueber den

Einfluss des Wassergehaltes der Nährböden auf das Wachsthum der Bacterien.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medicinischen Doctorwürde

vorgelegt der

hohen medicinischen Facultät

der

Universität Würzburg

von

Leo Wolf,

aus Oberstein a. N.

ACAD. UGD.BAT. BIBL.

München.

Druck von R. Oldenbourg.

1899.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549806_0143

Herr Professor Dr. K. B. Lehmann, den ich um Ueberlassung eines Themas zu einer Dissertation bat, machte mich darauf aufmerksam, dass über das Wachsthum der Bacterien auf wasserarmen Nährböden bis dahin noch keine sicheren, ausführlichen Ergebnisse veröffentlicht worden seien. Ich betrachtete es als eine angenehme Aufgabe, durch einige Untersuchungen auf diesem Gebiete zur Beantwortung dieser Frage Einiges beizutragen.

Es handelte sich zunächst darum, Nährböden von geringerem Wassergehalte, als die gebräuchlichen, herzustellen.

Gelatine.

Die Methode, Gelatinenährböden von hoher Concentration herzustellen, wurde im Wesentlichen von Herrn Dr. Berthold Hoffa, der einige Monate früher als ich im hiesigen hygienischen Institute unter Leitung von Herrn Prof. Lehmann über dieselbe Frage einige Vorversuche anstellte, ausgearbeitet.

Die Gelatine wird im Trockenschrank einige Stunden getrocknet, sodann in ein Tuch eingeschlagen, möglichst fein zerkleinert und in einer vorher gewogenen Schale im gewünschten Verhältnis mit Koch'scher Nährbouillon[1]) gemischt, darauf

1) 1000 g Bouillon aus 500 g Fleisch, dazu 10 g Pepton und 5 g Kochsalz, mittels Natronlauge und Phenophthalein neutralisirt.

24 Stunden lang im Zimmer gut verschlossen resp. vor Verdunstung möglichst geschützt stehen gelassen. In dieser Zeit hat sich die Gelatine mit der Nährbouillon zu einer ziemlich homogenen Masse vermischt. Dieselbe wird nun im Dampftopf verflüssigt und zugleich sterilisirt, darauf erstarren gelassen und sammt Schale gewogen; dabei ergiebt sich regelmässig eine ziemlich beträchtliche Gewichtsabnahme, also weitere Concentration.

Die Berechnung derselben geschieht nach folgendem Beispiel:

Gewünschter Wassergehalt 70%.

Gewicht der Schale	87,34	g
» » Gelatine	15,00	»
» » Bouillon	35,00	»
zusammen	137,34	g
» nach der Sterilisation	124,20	»
also Wasserverlust	13,14	»

Nach der Gleichung 21,86 : 36,86 = x : 100 ist der Wassergehalt x = 59,3%; dabei ist die unbedeutende Trockensubstanz der Bouillon vernachlässigt.

Eine genaue Controlprüfung des Concentrationsgrades wurde nun in der Weise vorgenommen, dass man gewogene Mengen der erstarrten Gelatine im Trockenschrank bis zum Constantbleiben des Gewichtes (Wägung nach drei und sechs Tagen) trocknete, wieder wog und aus der Gewichtsabnahme den Wassergehalt bestimmte. Die dabei sich ergebenden Zahlen stimmen im Allgemeinen mit den nach der Rechnung zu erwartenden befriedigend überein. Die Differenzen werden noch geringer, wenn man die Trockensubstanz der Bouillon in Rechnung zieht. Die Extractstoffe derselben betragen nach Prof. K. B. Lehmann-Archiv für Hygiene, Bd. III pag. 284 — 1,3%; dazu kommen noch 1% Pepton und ½% Kochsalz, also zusammen 2,8%. Es sind demnach, um bei dem oben angeführten Beispiele zu bleiben, in den benutzten 35 g Bouillon

noch 0,98 g Trockensubstanz und berechnet sich demgemäss nach der Gleichung 20,88 : 36,86 = x : 100. Der Wassergehalt x = 56,65 %.

Die bei unsern beiden Versuchsreihen mit Gelatine angewandten Nährböden hatten folgenden Wassergehalt:

1. Reihe.

	I	II	III	IV
Gewünschter Wassergehalt . . .	70 %	60 %	50 %	40 %
Nach der Sterilisation berechneter	59,3 »	51,47 »	46,13 »	34,86 »
Durch Austrocknung gefundener	53,0 »	50 »	41,5 »	26,4 »

2. Reihe.

	I	II	III	IV	V
Gewünschter Wassergehalt . .	80 %	70 %	60 %	50 %	40 %
Nach der Sterilisation berechneter	72,6 »	62,95 »	53,49 »	45,81 »	35,15 »
Durch Austrocknung gefundener	69,45 »	58,6 »	52,54 »	42,5 »	31 »

Die in den Schalen erstarrte fertig präparirte Gelatine wird in kleine Stückchen geschnitten, in abgewogenen Mengen von 3—5 g in ebenfalls vorher gewogene Reagensröhrchen gebracht, im Dampftopf sterilisirt und schräg erstarren gelassen, sodann wieder gewogen. Die dabei gefundenen minimalen Gewichtsdifferenzen konnten ausser Betracht bleiben.

Die einzelnen Nährböden wurden nun im Strich mit 7 Reinculturen — B. pyocyaneum, B. typhi, Vibrio Cholerae, B. prodigiosum, B. vulgare, Mikr. pyogenes α aureus, Bac. anthracis — geimpft, acht Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen und beobachtet. Sodann wurden die Reagensröhrchen sammt Gelatine im Trockenschrank bis zum Constantbleiben des Gewichtes getrocknet und aus der Gewichtsabnahme wiederum der Wassergehalt bestimmt. Die dabei gefundenen Zahlen entsprachen im Allgemeinen den bei der Berechnung gefundenen; es hatte

sich also, wie zu erwarten, die Gelatine in der Beobachtungszeit nicht nennenswerth in ihrem Wassergehalte verändert. Ueber das Wachsthum oben genannter Spaltpilze auf diesen Gelatinenährböden s. Tab. I und I a (S. 8).

Brot.

Gewöhnliches Graubrot aus mittelfeinem Weizen- und Roggenmehl wurde ohne die Rinde zerkrümelt, im Trockenschrank 24 Stunden getrocknet, im Mörser auf's Feinste zerstossen und gesiebt; sodann wurde dies in Schalen mit Bouillon und Normalnatronlauge im gewünschten Verhältnis gemischt (zur Neutralisation waren in unserm Falle für 10 g Brot 1,36 ccm Normal-NaOH nothwendig) und zu einer vollständig homogenenen Masse verrührt.

Damit wurde der Boden weithalsiger Kölbchen, die vorher gewogen waren, etwa 1 cm hoch bedeckt, dieselben dann gewogen, im Dampftopf sterilisirt und wieder gewogen.

Auch dabei war in der Regel eine mässige Gewichtsabnahme zu constatiren, wodurch der Wassergehalt sich noch etwa um je 1—2% verminderte. Auf diese Nährböden wurden die sieben Culturen durch mehrere, nebeneinanderliegende Stiche geimpft. Ueber das Wachsthum s. Tab. II u. II a (S. 8 u. 9).

Kartoffel.

Käufliches Kartoffelmehl wurde 24 Stunden im Trockenschrank getrocknet und mit Bouillon und Normalnatronlauge im gewünschten Verhältnis gemischt (bei unsern Versuchen war zur Neutralisation von 10 g Kartoffelmehl 0,39 ccm Normalnatronlauge nothwendig) und zu einer homogenen Masse verrührt. Daraus wurden nun auf dieselbe Weise, wie bei den Brotnährböden angegeben, Kartoffelnährböden hergestellt, welche ebenfalls durch die Sterilisation eine Verminderung ihres Wassergehaltes um 0—2% erfuhren. Ueber das Wachsthum der sieben Spaltpilze auf diesen Nährböden s. Tab. III u. III a (S. 9).

Fleischpulver.

Das von der Universitäts-Apotheke in Greifswalde hergestellte sogenannte »Fleischpulver« wurde mit Bouillon und Normalnatronlauge im gewünschten Verhältnis gemischt und weiter ebenso behandelt wie die Brot- und Kartoffelnährböden. Auch hier wurde nach der Sterilisation eine Herabsetzung des Wassergehalts um etwa 1 % gefunden. Ueber das Wachsthum obiger sieben Spaltpilze auf diesem Nährsubstrat s. Tab. IV (S. 10).

Cakes.

Albert-Cakes wurden mehrere Tage lang im Trockenschrank bis zum Constantbleiben des Gewichtes getrocknet, wobei sich ein Wassergehalt von ca. 4 % ergab. Sodann wurde eine Anzahl getrockneter Cakes gewogen, verschieden lange Zeit mit Bouillon durchtränkt und durch nochmalige Wägung die Flüssigkeitsaufnahme und daraus der Concentrationsgrad des Nährbodens bestimmt. Die einzelnen Cakes wurden nun in Glasschalen sterilisirt und wiederum gewogen, wobei sich gar keine oder nur ganz minimale Gewichtsdifferenzen gegen vorher ergaben. Darauf wurden die einzelnen Cakes mit obigen sieben Spaltpilzen durch mehrere dicht nebeneinander liegende Stiche geimpft und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Ueber das Wachsthum der Spaltpilze darauf s. Tab. V (S. 10).

Die Cakes eignen sich deshalb nicht gut zu Nährböden, weil sie bei ihrer dunklen Farbe und eigenthümlichen Oberfläche die Bacterienculturen nicht so leicht erkennen lassen, als die übrigen von uns geprüften Nährsubstrate, und auch kaum das aufgenommene Wasser in gleichmässiger Vertheilung enthalten.

Ein Versuch auf unverdünntem *Liebigs Fleischpepton*, das nach Angabe der Fabrik 30 % Wasser enthält, unsere Spaltpilze zu züchten, hatte vollständig negatives Resultat.

In folgenden acht Tabellen sind die Resultate unserer Versuche angegeben.

Tabelle I. **Gelatine.**

	I Wassergehalt 53%	II Wassergehalt 50%	III Wassergehalt 41,5%	IV Wassergehalt 26,4%
B. pyocyaneum .	deutlich	Spuren	?	= 0
B. typhi	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren
Vibr. cholerae . .	?	= 0	= 0	= 0
B. prodigiosum .	stark	stark	deutlich	= 0
B. vulgare . . .	deutlich	Spuren	Spuren	= 0
Mikr. pyogenes α aureus	?	?	deutlich	= 0
Bac. anthracis . .	?	Spuren	Spuren	Spuren

Tabelle Ia. **Gelatine.**

	I Wassergeh. 69,45%	II Wassergeh. 58,6%	III Wassergeh. 52,54%	IV Wassergeh. 42,25%	V Wassergeh. 31%
B. pyocyaneum	stark	deutlich	Spuren	?	= 0
B. typhi . .	deutlich	deutlich	Spuren	Spuren	= 0
Vibr. cholerae	Spuren	Spuren	?	Spuren	= 0
B. prodigiosum	sehr stark	sehr stark	sehr stark	stark	deutlich
B. vulgare .	stark	deutlich	Spuren	Spuren	= 0
Mikr. pyogenes α aureus .	sehr stark	sehr stark	stark	stark	deutlich
Bac. anthracis	deutlich	deutlich	Spuren	Spuren	= 0

Tabelle II. **Brot.**

	I Wassergehalt 70%	II Wassergehalt 60%	III Wassergehalt 50%	IV Wassergehalt 40%
B. pyocyaneum .	stark	deutlich	deutlich	?
B. typhi	deutlich	deutlich	?	= 0
Vibr. cholerae . .	deutlich	deutlich	?	= 0
B. prodigiosum .	sehr stark	stark	stark	deutlich
B. vulgare . . .	stark	Spuren	deutlich	= 0
Mikr. pyogenes α aureus	stark	deutlich	deutlich	deutlich
Bac. anthracis . .	stark	deutlich	?	= 0

Tabelle IIa. **Brot.**

	I Wassergehalt 70%	II Wassergehalt 60%	III Wassergehalt 50%	IV Wassergehalt 40%
B. pyocyaneum .	stark	stark	deutlich	Spuren
B. typhi	deutlich	deutlich	deutlich	= 0
Vibr. cholerae . .	deutlich	Spuren	Spuren	= 0
B. prodigiosum .	sehr stark	sehr stark	sehr stark	deutlich
B. vulgare . . .	deutlich	deutlich	?	= 0
Mikr. pyogenes α aureus	stark	stark	stark	deutlich
Bac. anthracis . .	deutlich	Spuren	?	0

Tabelle III. **Kartoffelmehl.**

	I Wassergehalt 70%	II Wassergehalt 60%	III Wassergehalt 50%	IV Wassergehalt 40%
B. pyocyaneum .	stark	deutlich	Spuren	deutlich
B. typhi	?	= 0	= 0	= 0
Vibr. cholerae . .	Spuren	= 0	= 0	= 0
B. prodigiosum .	sehr stark	stark	deutlich	deutlich
B. vulgare . . .	deutlich	deutlich	Spuren	Spuren
Mikr. pyogenes α aureus	deutlich	deutlich	deutlich	Spuren
Bac. anthracis . .	deutlich	deutlich	= 0	= 0

Tabelle IIIa. **Kartoffelmehl.**

	I Wassergehalt 70%	II Wassergehalt 60%	III Wassergehalt 50%	IV Wassergehalt 40%
B. pyocyaneum .	sehr stark	sehr stark	stark	deutlich
B. typhi	?	Spuren	?	= 0
Vibr. cholerae . .	deutlich	deutlich	Spuren	= 0
B. prodigiosum .	sehr stark	sehr stark	stark	deutlich
B. vulgare . . .	deutlich	deutlich	stark	Spuren
Mikr. pyogenes α aureus	sehr stark	stark	stark	deutlich
Bac. anthracis . .	stark	stark	deutlich	= 0

Tabelle IV.

Fleischpulver.

	I Wassergehalt 70%	II Wassergehalt 60%	III Wassergehalt 50%	IV Wassergehalt 40%
B. pyocyaneum	stark	stark	Spuren	Spuren
B. typhi	deutlich	Spuren	Spuren	= 0
Vibr. cholerae	stark	deutlich	= 0	= 0
B. prodigiosum	sehr stark	sehr stark	stark	Spuren
B. vulgare	stark	Spuren	deutlich	= 0
Mikr. pyogenes α aureus	stark	stark	deutlich	Spuren
Bac. anthracis	Spuren	Spuren	= 0	= 0

Tabelle V.

Cakes.

	I Wassergehalt 70,56—71,92%	II Wassergehalt 56,54—59,07%	III Wassergehalt 48,12—48,73%
B. pyocyaneum	stark	stark	deutlich
B. typhi	stark	deutlich	= 0
Vibr. cholerae	stark	stark	0
B. prodigiosum	stark	deutlich	= 0
B. vulgare	stark	deutlich	= 0
Mikr. pyogenes α aureus	stark	stark	Spuren
Bac. anthracis	stark	?	= 0

Aus diesen acht Tabellen geht hervor, dass Bacterien bei 50% Trockensubstanz auf unsern gebräuchlichen Nährböden meist noch wachsen, bei 60% Trockensubstanz aber versagen. Am besten scheinen — auch noch bei stärkerer Concentration des Nährbodens — die farbenbildenden Arten (B. pyocyaneum, B. prodigiosum und Mikr. pyogenes und aureus) zu gedeihen. Doch mag zum Theil die häufigere Feststellung ihres Wachsthums bei unsern Versuchen auch durch ihre leichtere Erkennbarkeit bedingt sein.

Es ist nicht ausgeschlossen, dass in einzelnen Fällen bei einer noch weiteren Herabsetzung des Wassergehalts unter 40 % als bei unsern Versuchen, ein geringes Wachsthum von Bacterien stattfinden kann. Die Stärke des Wachsthums nimmt natürlich ab, je geringer der Wassergehalt des Substrats wird. Unsere Versuche bestätigen in dieser Hinsicht viele bekannte Thatsachen des täglichen Lebens, wie z. B. die geringe Wachsthumsfähigkeit von Bacterien auf der Oberfläche des in den Kühlhäusern oberflächlich getrockneten Fleisches, in der Brotrinde, in dem trocknen Schorf einer Wunde etc.

Nach Beendigung meiner Versuche werde ich auf eine Mittheilung von Kappes[1]) aufmerksam, der Massenculturen von Bacterien auf Nährböden anlegte, deren Trockensubstanz folgendes enthielt:

1 %	Agar,
1 %	Gelatine,
1 %	Pepton,
1,5 %	Fleischextract,
0,5 %	Kochsalz,
5 %.	

Derselbe sagt: Am Ende dieses Abschnittes gedenke ich einiger Versuche, welche mit concentrirten Nährböden angestellt wurden, um vielleicht bis zu einer bestimmten Grenze eine reichere Ausbeute zu erzielen. Dabei zeigte sich aber, dass auf diesem Wege keinerlei Vortheile entsprangen; denn der Nährboden bot bei einer Steigerung des Gehaltes an Pepton, Fleischextract und Chlornatrium kein günstigeres Wachsthum; dasselbe wurde im Gegentheil weniger energisch, wenn die genannten Bestandtheile in der fünffachen Menge der gegebenen Vorschrift angewandt wurden, es verlosch fast gänzlich bei weiterer Steigerung.

Dieser Befund einer energischen Wachsthumshemmung schon bei 25 % Trockensubstanz, findet wohl seine Erklärung

---

1) Kappes, Analyse der Massen-Culturen einiger Spaltpilze. Leipzig 1890 (Dissertation).

darin, dass Kappes in seinen Versuchen nicht, wie wir, nur die vielleicht als indifferent zu betrachtende Gelatine, sondern Pepton, Fleischextract und Chlornatrium vermehrt hat.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, Herrn Professor Dr. K. B. Lehmann für die Ueberlassung des Themas, sowie für die vielfache Anregung und Unterstützung bei meinen Arbeiten, Herrn Dr. R. Neumann für seine freundlichen Anweisungen, sowie Herrn Dr. Berthold Hoffe für die Mittheilung der Resultate seiner Vorversuche meinen besten Dank auszudrücken.